

Prevention of murine acute graft-versus-host disease by staphylococcal enterotoxin B treatment

著者	竹中 克彦
発行年	2001-03-26
その他の言語のタイトル	Staphylococcal enterotoxin B投与によるマウス急性GVHD抑制効果 Staphylococcal enterotoxin B トウヨ ニ ヨル マウス キュウセイ GVHD ヨクセイ コウカ
URL	http://hdl.handle.net/10422/2731

氏名・(本籍)	竹中克彦(滋賀県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士第368号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成13年3月26日
学位論文題目	Prevention of murine acute graft-versus-host disease by staphylococcal enterotoxin B treatment (staphylococcal enterotoxin B 投与によるマウス急性 GVHD 抑制効果)
審査委員	主査 教授 瀬戸 昭 副査 教授 小笠原 一誠 副査 教授 馬場 忠雄

論文内容の要旨

【目的】

移植片対宿主病 (GVHD) は、造血幹細胞移植後の主要な合併症のひとつであり、その治療上の開発が待たれる。マウスのレトロウイルスに代表される内因性スーパー抗原である Mls(minor lymphocyte stimulating) 抗原が、急性 GVHD の病態に関与することは知られている。しかし、外来性の細菌性スーパー抗原が急性 GVHD を制御する可能性については明らかではない。今回の研究では、急性 GVHD のマウスモデルにおいて細菌性スーパー抗原である Staphylococcal enterotoxin B(SEB) 投与による急性 GVHD 抑制効果について検討した。

【方法】

C57BL/6 の脾細胞 5×10^7 を BDF1 マウスに静脈内投与し、急性 GVHD を誘導した。移植後 0、3、6、9 日目に SEB $20 \mu\text{g}/0.5\text{ml}$ を腹腔内投与した。GVHD マウスのコントロールには正常の BDF1 を、SEB のコントロールには PBS を用いた。実験群は a. GVHD+PBS 群、b. GVHD+SEB 群、c. Cont+SEB 群、d. Cont+PBS 群の 4 群 ($n=4$ or 5) に分け、次の項目を比較検討した。移入後 2、21 日目の脾重量より脾腫を比較し、脾リンパ球のキメラ状態、CD4、CD8、B 細胞分画、さらに $V\beta 8^+T$ 、 $V\beta 10^+T$ 細胞分画を flow cytometry により測定した。大腿骨より採取した骨髓細胞をメチルセルロース法で培養し CFU-GM 数を測定した。また、脾細胞を無刺激で 3 日間培養後 ^3H -thymidine 取り込み能を測定し、donor リンパ球の host 抗原に対する増殖反応を検討し、脾細胞培養上清中の IL-2 産生量を ELISA 法で測定した。移入後 14 日目の脾細胞と X 線照射した BDF1 刺激細胞を IL-2 刺激下で 5 日間混合培養してエフェクター細胞とし、P-815 および EL-4 腫瘍株を標的細胞として、 ^{51}Cr 遊離試験を行った。

【結果】

B6 脾細胞移入後 21 日目の BDF1 では GVHD による脾腫がみられたが、SEB の投与により脾腫は軽減した (Fig1)。これらの SEB を投与した GVHD マウスの脾臓では、donor 由来 $CD4^+$ 、 $CD8^+T$ 、B 細胞の増殖が抑制されており、GVH 反応である host 由来 $CD4^+T$ 、B 細胞の減少はみられなかった (Table1)。骨髓では GVHD による造血抑制がみられ CFU-GM 数は著明に減少したが、SEB の投与により造血抑制は軽減した (Fig2)。移入後 2 日目 GVHD 早期のアロ抗原認識段階において、donor T 細胞の増殖反応は増強したが SEB 投与により有意に抑制された (Fig3)。また、アロ抗原に反応してみられた donor T 細胞の IL-2 産生も SEB の投与により抑制された (Fig4)。移入後 21 日目の脾臓において、donor 由来 T 細胞のうち $V\beta 8^+T$ 細胞の有意な増加はみられなかった。SEB を投与したマウスでは、donor 由来と host 由来の $CD4^+V\beta 8^+T$ 細胞数が減少していた (Fig5)。移入後 14 日目の脾細胞を用いた In vitro での anti-host CTL 活性は、SEB 投与で差がみられなかった (Fig6)。

【考 察】

parent→F1の急性GVHDモデルでは、donorリンパ球の増殖に伴いhostの骨髄抑制、リンパ球減少がみられる。SEBを投与することにより、これらのGVHD反応を抑制する効果が得られた。移入後2日目のGVHD早期におけるIn vitroでの脾細胞の増殖反応およびIL-2産生は、主にdonor CD4陽性T細胞がアロ抗原を認識し活性化することによるものとされている。SEBを投与したマウスではこれらの活性化が抑制されていたことから、host抗原に対するdonor CD4陽性T細胞の反応を調節することによりGVHDの進展が妨げられたと考えられる。SEBをマウスに投与すると、末梢のV β 8⁺T細胞は不応答に陥り、一部はアポトーシスを起こすことが知られている。我々のモデルでも、SEBを投与したGVHDマウスにおいてdonor由来のV β 8⁺T細胞数が有意に減少しており、これがGVHD抑制機序に関与したと思われる。またSEB投与により、donor由来とhost由来のT細胞はCon A刺激に対する反応が低下してみられた。SEB刺激を受けたT細胞から産生されるIL-10やTGF β などの抑制性サイトカインが関与してV β 非拘束的に全T細胞に免疫応答の低下が誘導され、GVHD抑制に働いた可能性が推測される。

【結 論】

SEBの全身投与により、donor由来T細胞にhost抗原に対する不応答を誘導し、マウスの急性GVHDが抑制されることを見出した。SEBによるマウスの急性GVHD抑制機序をさらに解明してゆくことで、造血幹細胞移植後急性GVHDの臨床治療において新しい知見が得られるものと期待する。

論文審査の結果の要旨

本研究では、細菌性スーパー抗原Staphylococcal enterotoxin B(SEB)が、C57BL/6マウスの脾細胞をBDF1マウスに投与して誘導した急性移植片対宿主病(GVHD)を抑制する可能性について検討している。その結果、SEBの投与により、1)脾腫の改善、2)donorリンパ球の増殖抑制およびhostリンパ球減少の回避、3)造血障害の軽減、がみられ、GVHDが抑制されたと判定された。また、SEBの投与により、SEB応答性のV β 8陽性T細胞は減少し、donor T細胞はhost抗原に対する応答性を喪失していた。以上より、SEB投与の結果、V β 拘束的及び非拘束的にdonorリンパ球の働きが抑制されたものと考えられた。本研究は、SEBが急性GVHDを抑制し得ることを示し、その臨床応用の可能性を明らかにしたもので、博士(医学)の学位論文として価値のあるものと認められる。